

文章编号: (2009)04-0313-05

汉防己甲素眼用凝胶剂的制备及质量控制

赵文明

(辽宁医学院 药学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要: **目的** 制备汉防己甲素眼用凝胶剂并建立质量控制方法。 **方法** 采用羟丙基甲基纤维素(HPMC)作基质制备眼用凝胶剂, 采用 HPLC 法测定汉防己甲素的含量, 并建立制剂其他的质量控制指标。 **结果** 汉防己甲素眼用凝胶剂外观为无色澄明黏稠胶体。汉防己甲素又名粉防己碱(tetrandrine, TET)在 5~40 mg·L⁻¹ 的浓度内线性关系良好($r=0.9999$)。平均回收率为 99.3% (RSD=0.16%)。 **结论** 该眼用凝胶剂处方可用于工业化大生产。

关键词: 药剂学; 眼用凝胶剂; 汉防己甲素; 高效液相色谱法

中图分类号: R943

文献标志码: A

汉防己甲素又名粉防己碱(tetrandrine, TET)是从中药中提取的一种生物碱^[1], 为双苄基异喹啉类生物碱。其在眼部疾病的治疗中常用于青光眼的治疗^[2-4], 其结构如图 1。由于普通的滴眼剂滴眼后立即被结膜囊中的泪液稀释, 并很快从泪道排出, 作用时间短暂, 为了延长药物作用时间, 采用高分子亲水性聚合物为基质的凝胶剂作为药物载体, 制备成眼用凝胶剂, 可有效解决上述问题。通过增加粘度和生物粘附性而延长药物在眼部的滞留时间, 提高生物利用度, 提高疗效, 并可减少眼部给药的剂量和次数。本文作者完成了处方的筛选, 确定了制剂的工艺, 建立了质量研究方法。

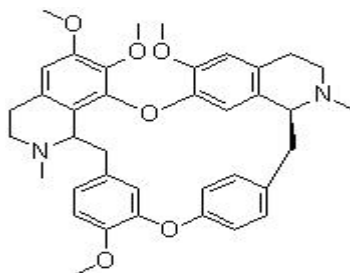


Fig. 1 The structure of tetrandrine

1 仪器与试药

TU-1800 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司), BP211D 型电子天平(德国 Sartorius), BS233S 型电子天平(德国 Sartorius 公司), DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司), TK-12B 型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技有限公司), FM-5J 简易型冰点渗透压计(上海医科大学仪器厂), UV-2450 紫外-可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司), LC-10ATvp 高效液相色谱仪(日本 shimadzu 公司), TET 对照品(中国药品生物制品检定所 批号 110711-200406), TET 原料药(武汉五景药业有限公司)。

2 方法与结果

2.1 质量分数为 0.1% 的 TET 眼用凝胶剂处方

TET 5 mg、体积分数为 10% 的乳酸 适量、苯扎氯铵 0.5 mg、EDTA-2Na 2.5 mg、质量分数为 10% 的 NaOH 溶液适量、氯化钠 40 mg、HPMC K4M 50 mg、注射用水加至 5 g。

2.2 制法

在无菌操作条件下, 称取 HPMC K4M 适量, 加入注射用水, 静置使其溶胀, 配成质量分数为 1% 的溶液; 将 TET 和体积分数为 10% 的乳酸溶液, 苯扎氯铵 0.5 mg、EDTA-2Na 2.5 mg 配成混合物

收稿日期: 2009-06-15

作者简介: 赵文明(1957-), 男(汉族), 辽宁锦州人, 副教授, 主要从事药物新剂型研究, Tel. 13700066848, E-mail zhaowenming1957@163.com。

加入上述溶液中,搅拌均匀;用质量分数为10%的NaOH溶液调节pH值为6,加入NaCl调节等渗,过滤,灭菌,分装于5 mL滴眼瓶内即得。

2.3 质量控制

2.3.1 外观形状

本品为无色澄明黏稠胶体。

2.3.2 酸碱度

取本品1g,加蒸馏水至5 mL稀释后测得pH值在5-7。

2.3.3 眼部刺激性实验

取质量2.0~2.5 kg健康新西兰大耳白兔,每组4只,雌雄各半。右眼为实验眼,分别给予空白辅料、质量分数0.1% TET 眼用凝胶剂和质量分数为0.1%的TET滴眼液1滴;左眼为对照眼,给予生理盐水1滴,1日3次,每次用药后观察。结果表明该制剂对兔眼均无明显影响,双眼角膜透明,无混浊,虹膜纹理清晰,结膜无充血、无水肿、无分泌物,临床应用是安全的。连续用药两周后将家兔处死,取眼部组织作病理切片检查,未发现任何病理变化。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),预柱C₁₈(50 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇-磷酸二氢铵溶液(0.02 mol·L⁻¹)-三乙胺(体积比为71.0:29.0:0.3, pH7),波长:279 nm,流速:1.0 mL·min⁻¹。进样量:20 μL,柱温:室温。

2.4.2 系统适应性实验

在上述色谱条件下,按处方组成和工艺要求制成不含TET的空白辅料凝胶剂。另取TET对照品适量,加流动相稀释配成对照品溶液。分别量取上述溶液各20 μL注入液相色谱仪,记录色谱图。由图2、3可见,空白凝胶在TET的保留时间没有吸收峰,不影响主药的测定。理论塔板数按TET峰计算不低于2 000, TET峰与杂质峰R_f大于1.5。

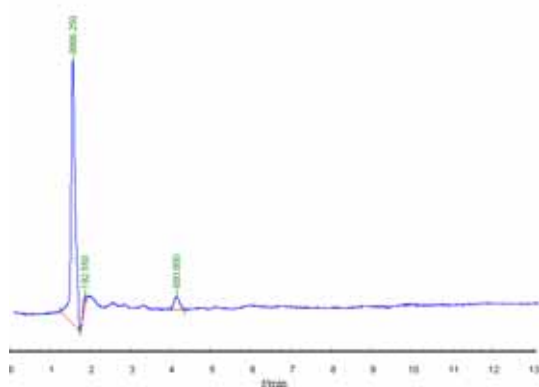


Fig.2 HPLC chromatogram of the blank gels

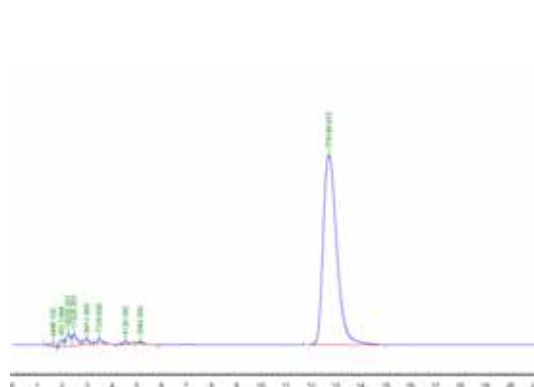


Fig.3 HPLC chromatogram of TET sample

2.4.3 线性范围

取TET对照品约12.5 mg,精密称定,置25 mL量瓶中,流动相稀释摇匀。精密量取上液5 mL置50 mL量瓶中,同法操作得贮备液。精密量取贮备液1、2、4、5、6、8 mL分别置于10 mL量瓶中,流动相稀释摇匀,取上述系列溶液进样,记录色谱峰面积,以峰面积A对质量浓度ρ进行线性回归,得标准曲线方程为: $A=6.718 \times 10^4 \rho + 8.146 \times 10^3$, $r=0.999$ 。结果表明,TET在5~40 mg·L⁻¹内线性关系良好。

2.4.4 重复性

精密称取本品适量配成 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 液进样, 记录色谱峰面积, 平行配制 6 份。实验结果(见表 2-5)表明, $\text{RSD}=0.62\%$, 重复性良好。

2.4.5 精密度

精密称取 TET 对照品适量, 以流动相配制成低 ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、中 ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和高 ($30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 3 种质量浓度的溶液, 分别在不同时间间隔 (0、2、4、6、8 h 及 0、1、2、3、4 d) 进样, 记录色谱峰面积, 分别计算 3 种质量浓度的色谱峰面积的日内差、日间差。结果可见, 日内、日间精密度的 RSD 均小于 2%, 表明精密度良好。

2.4.6 回收率

精密称取 TET 对照品适量, 配成低 ($8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、中 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和高 ($12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 3 种质量浓度并按处方比例加入辅料, 依次进样, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算 TET 的回收率。3 种质量浓度各平行配制 3 份。回收率结果见表 1, 可知 3 个质量浓度的平均回收率分别为 99.4%、99.1% 和 99.4%, 符合要求。

Table 1 Recovery results of TET in gels

$\rho_{\text{added}}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho_{\text{found}}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	w/%	\bar{X} /%	RSD/%
7.97	7.91	99.2		
8.15	8.09	99.3	99.4	0.15
8.03	7.95	99.0		
9.94	9.83	98.9		
10.08	10.01	99.3	99.1	0.21
10.12	10.02	99.0		
12.21	12.13	99.3		
11.95	11.87	99.3	99.4	0.12
12.17	12.11	99.5		

2.4.7 样品测定

精密称取 TET 凝胶剂 0.3 g, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 超声处理 15 min。0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。另取 TET 对照品约 12.5 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相适量, 超声 5 min 使 TET 溶解, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 0.6 mL 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。分别量取上述溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算, 3 批供试品测定结果分别为 100.5%、100.1%、99.6%。

2.5 稳定性研究

2.5.1 离心试验

取本品置刻度离心管中, $5\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 凝胶无分层和变色现象。

2.5.2 影响因素实验

高温实验是将样品置于玻璃平皿中, 在 60 恒温箱中放置 10 d, 第 5 天和第 10 天取样检测, 结果见表 2, 可知 60 放置 10 d 后, 凝胶剂色泽略有加深, 胶体稍混, pH 值稳定, 有关物质可见异物、含量未见明显变化, 说明本品不宜在高温处放置。40 高温实验结果见表 3, 可知凝胶无分层和变色现象。强光照射实验将样品置于澄明度仪中, 照度为 $(4\ 500\pm 500) \text{ lx}$, 同法操作。结果见表 4, 可知, 强光照射 10 d 后, pH 值稳定, 样品的色泽、黏度、可见异物未见明显变化、有关物质及含量有所下降, 提示本品宜遮光放置。

2.5.3 低温和冻融实验

均包括3次循环, 每次循环分别在2~8 (低温) 和-10~-20 (冻融) 2 d, 然后40 加速条件下考察2 d。结果见表5, 可知样品pH值稳定, 样品的色泽、黏度、可见异物未见明显变化、有关物质及含量有所下降, 提示本品宜遮光放置。

Table 2 Accelerated stability of the gels at 60

t/d	Appearance	Visual matter	Viscosity	pH	w _{content} /%	Impurities/%
0	Colorless, clear, concentrated	No	Unchanged	6.1	98.5	7.4
5	Yellow, turbid, concentrated	Yes	Unchanged	6.2	97.8	7.5
10	Yellow, turbid, concentrated	Yes	Unchanged	6.2	97.4	7.9

Table 3 Accelerated stability of the gels at 40

t/d	Appearance	Visual matter	Viscosity	pH	w _{content} /%	Impurities/%
0	Colorless, clear, concentrated	No.	Unchanged	6.1	98.5	7.4
5	Colorless, clear, concentrated	No.	Unchanged	6.1	98.6	7.4
10	Colorless, clear, concentrated	No.	Unchanged	6.1	98.0	8.0

Table 4 Accelerated stability of the gels at the light of (4500±500) lx

t/d	Appearance	Visual matter	Viscosity	pH	w _{content} /%	Impurities/%
0	Colorless, clarify, concentrated	No.	Unchanged	6.1	98.5	7.4
5	Colorless, clarify, concentrated	No.	Unchanged	6.1	96.0	7.9
10	Colorless, clarify, concentrated	No.	Unchanged	6.1	93.4	9.1

Table 5 Stability of the gels at low temperature and after freezing-fusion (2d)

	Appearance	Visual matter	Viscosity	pH	w _{content} /%	Impurities/%
0	Colorless, clear, concentrated	No.	Unchanged	6.1	98.5	7.4
Low temperature	Colorless, clear, concentrated	No.	Unchanged	6.2	96.7	8.7
Freezing-fusing	Colorless, clear, concentrated	No.	Unchanged	6.2	95.6	8.2

3 讨论

a. 常规方法无法对以 PVA 为基质的凝胶剂进行色谱分析, 原因可能是 PVA 为高聚物, 与色谱柱中的填料有强烈的吸附性, 不宜被洗脱下来^[5]。且其不溶于甲醇等有机溶剂。本实验中作者试图运用液-液萃取的方法从凝胶剂中将主药提取出来.后.进行色谱分析, 结果不理想, 故舍弃该基质。HPMC 的分子式为 $C_8H_{15}O_8-(C_{10}H_{18}O_6)_n.-C_8H_{15}O_8$, 相对分子质量约为 86 000^[6]。其中 K4M

(20, 质量分数为2%的水溶液条件下黏度为4 000 MPa·s) 型号常用作眼用制剂的增黏剂和阻释剂, 对眼刺激性极小; 该种凝胶剂的 HPLC 法文献[7]有报道。

b. HPLC法因具有良好的分离效果与专属性, 已经成为质量控制的必备条件。本实验中作者建立的色谱条件能较好的将TET与其他杂质分离, 并用对照品按外确良标法计算含量, 能准确地求出TET的含量。HPLC法为制剂研究中的质量控制提供了有力的保证。

c. 由于眼用凝胶剂具有黏性, 含量测定和有关物质检查时进入 HPLC 仪的质量浓度均不宜太高, 否则易堵塞色谱柱。虽然实验结束后用水可以将其冲洗掉, 但是也易给实验造成麻烦。所以本实验中作者采取一方面色谱柱前加预柱的方法, 另一方面在满足测定要求的前提下尽量降低样品的进样浓度。

d. 本实验中作者采用确定的处方组成与制备工艺, 制备TET眼用凝胶剂, 灌装于聚酯滴眼瓶中。所以本文作者分别在高温及光照条件下进行影响因素试验和低温及冻融试验^[23], 初步考察本制剂的稳定性。

参考文献:

- [1] 田代华. 实用中药辞典: 上卷 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 801.
- [2] 宿艳, 王静波, 朱晓琳. 中医药治疗青光眼研究进展及视神经保护展望[J]. 吉林中医药, 2005, 25 (9): 59-61.
- [3] 叶兴桥, 刘恒明. 难治性青光眼治疗的研究进展[J]. 中国实用眼科杂志, 2007, 25 (12): 1275-1278.
- [4] 秦力维, 陈盛举, 金婉容. 汉防己甲素及对眼科疾病防治的研究进展[J]. 眼科新进展, 2002, 22 (6): 426-428.
- [5] 徐竞成, 郑涛. 分光光度法测定印染废水中聚乙烯醇含量[J]. 化工环保, 2004, 24(增刊): 387-388.
- [6] RAYMOND CR, PAUL J S, PAUL J W. 郑俊民主译. 药用辅料手册.第四版[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 343-347.
- [7] 王丽茹, 张强. 盐酸地匹福林眼用凝胶剂的研究[J]. 中国新药杂志, 2002, 11 (4): 300-303.

Preparation and quality control of tetrandrine ophthalmic gels

ZHAO Wen-ming

(Department of Pharmacy, Liaoning College of Medicine, Jinzhou 121001, China)

Abstract : **Objective** To prepare tetrandrine ophthalmic gels and establish quality control method. **Methods** HPMC K4M was used as the matrix to prepare ophthalmic gels. The quality control method was explored. The content of tetrandrine was determined by HPLC. The stability of the gels at different conditions was studied. **Results** The ophthalmic gels were colorless and viscous. There was a good linear relationship between peak area and drug concentration in the concentration range of 5-40 mg·L⁻¹ ($r=0.9999$). The recovery of tetrandrine was 99.3% (RSD=0.16%). **Conclusion** The procedure of preparing ophthalmic gels is reliable and the prepared ophthalmic gels are stable.

Key words: pharmaceuticals; ophthalmic gel; tetrandrine; HPLC

(责任编辑 曹霞)